

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У СИНОВІАЛЬНІЙ РІДИНІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-CoV2-ІНФЕКЦІЇ

Пандемія коронавірусної хвороби 2019 року (Coronavirus disease 2019, COVID-19), спричинена важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу 2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2), створила серйозну загрозу громадському здоров'ю в усьому світі. Вона спричинила розвиток багатьох ускладнень і смертей, тому мільйони людей перебувають під загрозою у все більшій кількості країн. Особливу групу становлять хворі на хронічні захворювання, зокрема остеоартрити. Відомо, що розвиток остеоартритів пов'язаний з окисним стресом і надлишковим продукуванням вільних радикалів. Білки високочутливі до вільнорадикального окиснення, тому рівень їхнього окиснення відображає окисно-антиоксидантний баланс в організмі.

Метою роботи було визначити вміст продуктів окисної модифікації білків і сульфгідрильних груп у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. Усі учасники дослідження були поділені на дві групи: перша (n=22) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, друга (n=14) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку й середньотяжку форму COVID-19 6–9 місяців тому. Було досліджено продукти окиснення білків у синовіальній рідині пацієнтів усіх дослідних груп. Вміст продуктів окисної модифікації білків визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном. Вміст загальних, білок-зв'язаних і небілкових сульфгідрильних (SH-) груп вимірювали за методом Елмана. Обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Установлено, що у синовіальній рідині пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів, які перехворіли на COVID-19, вміст продуктів окисної модифікації білків зростає. За тих самих експериментальних умов вміст сульфгідрильних груп знижувався. Виявлені зміни свідчать про порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV-2-інфекції. Це вказує на превалювання вільнорадикальних процесів і розвиток окисного стресу безпосередньо в суглобі. Отримані результати свідчать, що у хворих на остеоартрит після інфікування COVID-19 можливий розвиток більш важкого ураження суглобів.

Ключові слова: SARS-CoV-2, остеоартрит, синовіальна рідина, окисна модифікація білків.

Вступ. На сьогоднішній день найбільшим викликом для людства є глобальне поширення важкого гострого респіраторного синдрому (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2). Коронавірус став відомим людству після виявлення захворювання у м. Ухань, Китай, у грудні 2019 року. Протягом п'яти місяців коронавірусна хвороба (Coronavirus disease 2019, COVID-19) урадила понад 210 країн світу. Одночасно цей вірус подолав континентальний і видовий бар'єри, створивши серйозну загрозу для здоров'я людей [1, 2].

Пандемія SARS-CoV-2 завдає шкоди багатьом країнам по всьому світу, знижуючи рівень соціально-економічного життя людей. Це пов'язано з погіршенням фізичного та психічного здоров'я пацієнтів, а також сповільненням економіки країн через суворі карантинні заходи й протоколи безпеки. Отже, SARS-CoV-2 впливає на якість життя мільйонів людей у світі, зокрема й в Україні [3, 4].

Відомо, що передусім COVID-19 вражає клітини дихальної системи, що виявляється ознаками респіраторної інфекції (кашель, чхання, лихоманка, головний біль, слабкість тощо). Через п'ять – вісім днів такі симптоми, як задишка, можуть призвести до гострого респіраторного дистрес-синдрому. Крім ураження дихальної системи, вірус здатен викликати розвиток позалегенових симптомів і ускладнювати стан пацієнтів із коморбідними захворюваннями. У результаті перебіг коронавірусної хвороби у таких пацієнтів може бути більш небезпечним і важким [5, 6]. Відомо, що у 15 % людей, хворих на COVID-19, розвивається артралгія, також у деяких пацієнтів спостерігаються ознаки реактивного або вірусного артрити. Отже, з одного боку, існують певні причинно-наслідкові зв'язки між впливом SARS-CoV-2 і початком артрити, а з іншого – сама коронавірусна хвороба створює очевидний ризик ускладнення перебігу вже існуючого в пацієнтів остеоартрити [7–11]. Це може підвищити тяжкість його перебігу та сприяти розвитку

ускладнень. Тому для розуміння патогенності вірусу, його можливого впливу на опорно-рухову систему, зокрема суглоби, необхідно вивчати потенційно новий зв'язок між SARS-CoV-2 та артритом.

Незалежно від тригера, що спричинює формування остеоартрити, важливу роль у його патогенезі відіграють активні форми кисню (АФК). Ці хімічні речовини містять один або більше неспарених електронів у зовнішній орбітальній оболонці, вони нестабільні, високореактивні й мають нетривалий час існування. Інтенсифікація їхнього утворення спричинює розвиток окисного стресу, що призводить у суглобі до синовіального запалення і дисфункції субхондральної кістки. Наслідком надмірного утворення АФК на біохімічному рівні є ушкодження біологічних молекул: білків, ліпідів і нуклеїнових кислот [12].

Отже, **метою** роботи було визначити концентрацію продуктів окисної модифікації білків і сульфгідрильних груп у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідженні брали участь 36 пацієнтів у віці від 39 до 70 років, які перебували на стаціонарному або амбулаторному лікуванні в ортопедичному спеціалізованому медичному центрі "Ортоклініка" (Тернопіль, Україна) із приводу остеоартрити. У пацієнтів був установленний діагноз "остеоартрит колінних суглобів II–III ступеня" на підставі клінічних і рентгенологічних критеріїв. На етапі відбору всім хворим проводили рентгенографію колінних суглобів у прямій (передньозадній) і боковій проєкціях. Оцінювання інтенсивності болю і функціонального стану колінних суглобів хворих проводили за допомогою розрахунку індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), який підраховується за результатами самостійного проходження пацієнтом тесту, що включає 24 запитання, які відображають вираженість

больових відчуттів (5 запитань), скутості (2 запитання) і функціональної активності (17 запитань) [13].

Усі учасники дослідження далі були поділені на дві групи. Перша група ($n=22$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня. В обстежуваній групі виключали можливу супутню наявність коронавірусної інфекції шляхом проведення епідеміологічного анамнезу кожного пацієнта та відсутності їхнього контакту із хворими на COVID-19. Друга група ($n=14$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19 6–9 місяців тому. Діагноз COVID-19 був підтверджений молекулярним аналізом (RT-PCR) мазка з носоглотки. Усі учасники, що добровільно погодилися взяти участь у цьому дослідженні, ознайомилися та підписали відповідну форму інформованої згоди. Дослідження виконані з дотриманням основних положень "Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини", затверджених Гельсінською декларацією (1964–2013), ICH GCP (1996), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. та схвалені Комітетом з етики медичного центру "Ортоклініка" (Тернопіль, Україна). Вжито всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Збір біологічного матеріалу проводився на базі спеціалізованого медичного центру "Ортоклініка", місто Тернопіль, Україна. У дослідженнях оцінювали вміст продуктів окисної модифікації білків і рівень сульфгідрильних груп у синовіальній рідині пацієнтів усіх дослідних груп. Синовіальну рідину збирали у стерильні пробірки з гепарином шляхом артроцентезу колінного суглобу відповідно до стандартних протоколів обробки. Ураховуючи, що найбільші порожнини колінного та кульшового суглобів мають максимальний об'єм синовіальної рідини до 3,5 мл, збір біологічного матеріалу в умовно здорових людей є небезпечним і може призвести до порушення структурно-функціонального стану суглоба. У зв'язку із цим у наших дослідженнях група умовно здорових людей відсутня.

У синовіальній рідині визначали такі біохімічні показники. Вміст продуктів окисної модифікації білків визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном [14]. Вміст загальних, білок-зв'язаних і небілкових сульфгідрильних (SH-) груп вимірювали за методом Елмана [15]. Визначення концентрації білка проводили за методом Лоурі [16]. Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро – Вілка з використанням програмного пакету "Graph Pad Prism 8.4.3" ("Graph Pad Software Inc.", США). Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою Н-критерію Крускала – Уолліса із пост-тестом Данна. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного $\pm$ стандартна похибка середнього. Результати вважали значущими при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Синовіальна рідина – гелеподібна рідина, що заповнює порожнину суглобів. Вона є важливим компонентом суглоба та значною мірою визначає його морфо-функціональний стан. Синовіальна рідина змачує суглобовий хрящ, забезпечує його живлення шляхом дифузії і створює захисний бар'єр між суглобовими структурами й ушкоджувальними агентами. Утворюється синовіальна рідина з ультрафільтрату плазми крові, що виробляється і регулюється синовіальною оболонкою. Здорове коліно містить ~3 мл синовіальної

рідини. При патології кількість синовіальної рідини значно зростає. Аналіз складу й особливостей метаболізму синовіальної рідини відіграє важливу роль у визначенні характеру патологічного процесу, який відбувається в ураженому суглобі. Тому дослідження параметрів стану синовіальної рідини є важливим критерієм для розуміння розвитку патологічного процесу в суглобі, установлення діагнозу та моніторингу лікування захворювань суглобів [17, 18].

Зсув окисно-антиоксидантної рівноваги в бік інтенсифікації вільнорадикальних процесів відіграє важливу роль у патогенезі запальних процесів. Окиснювальний стрес виникає, коли утворення вільних радикалів у живих організмах перевищує потужність їхнього антиоксидантного захисту. Вільні радикали є реакційноздатними хімічними сполуками, які відрізняються від інших сполук тим, що мають неспарені електрони на своїх зовнішніх орбіталях. Вони спроможні пошкоджувати клітинні компоненти і, за накопиченими даними, можуть сприяти виникненню різних захворювань, включаючи запальні захворювання суглобів. АФК, а також активні форми азоту (АФА), можуть прямо чи опосередковано пошкоджувати основні суглобові складові та призводити до клінічних виявів запального артрити [19].

Білки є основними початковими мішенями ланцюжка пошкодження біомолекул для вільних радикалів у живих організмах. Вони атакують білки по всій довжині поліпептидного ланцюга, порушуючи не тільки первинну, але і вторинну та третинну їхні структури, що призводить до агрегації або фрагментації білкової молекули. Інтенсивність окисної модифікації білків визначається особливостями їхнього амінокислотного складу. Акцепторними групами, що здатні перехоплювати електрони, взаємодіючи з активними формами кисню, й утворювати аніон-радикали, можуть бути дисульфідні, сульфгідрильні, карбонільні, карбоксильні й аміногрупи білків. Модифікація білків може призводити до підвищення гідрофільності бічного ланцюга, фрагментації бічного й основного ланцюгів, агрегації за рахунок ковалентних поперечних зв'язків або гідрофобних взаємодій, розгортанню білка та зміни конформації, зміненням взаємодіям із біологічними партнерами та зміненню оберту. Утворення й накопичення таких модифікованих білків порушує їхнє функціонування, що призводить до розвитку різних патологічних станів, зокрема й остеоартритів [20, 21]. Отже, окиснення білків відіграє значну роль у розвитку біологічного пошкодження, спричиненого радикалами.

У ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що у групі пацієнтів, хворих на остеоартрит колінних суглобів, у синовіальній рідині вміст продуктів окисної модифікації білків зростає (табл. 1). Зокрема, збільшується рівень нейтральних альдегідних продуктів (макс. абсорбції при 356 нм) – в 1,3 раза та нейтральних кетонних продуктів ($E_{max} = 370$ нм) – відповідно в 1,5 раза порівняно із групою хворих на остеоартрит. Виявлено, що в синовіальній рідині суглобів пацієнтів з остеоартритом, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19, вміст основних альдегідних продуктів (максимум поглинання при 430 нм) збільшується в 1,6 раза відносно групи хворих на остеоартрит, при цьому вміст основних кетонних продуктів ($E_{max} = 530$ нм) зростає в 1,4 раза порівняно з даними показниками у синовіальній рідині суглобів пацієнтів з остеоартритом (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст продуктів окисної модифікації білків у синовіальній рідині колінних суглобів дослідних груп, ум. од. × мг білка⁻¹ (M ± m)

Групи людей		Остеоартрит (n = 22)	Остеоартрит + COVID-19 (n = 14)
Показник			
Продукти нейтрального характеру	356 нм, альдопохідні	0,521 ± 0,049	0,672 ± 0,065*
	370 нм, кетопохідні	0,376 ± 0,037	0,556 ± 0,052*
Продукти основного характеру	430 нм, альдопохідні	0,224 ± 0,021	0,362 ± 0,033*
	530 нм, кетопохідні	0,115 ± 0,011	0,158 ± 0,014*

* – p < 0,05 відносно групи людей з остеоартритом.

Також ступінь білкової модифікації можна оцінювати за рівнем окиснення сульфгідрильних груп білків. Сульфгідрильні групи входять до складу як високомолекулярних білків (білок-зв'язані SH-групи), так і низькомолекулярних пептидів (небілкові SH-групи), переважно у складі цистеїнових залишків. Процеси окисної модифікації білків можуть відбуватись як прямим, так і ферментативним шляхом за участю ферменту глутатіонпероксидази та гідроперексидів ліпідів. У першу чергу окисненню піддаються саме сульфгідрильні групи білків, що оберігає від окиснення інші функціональні групи й молекули [22, 23].

Виявлено, що у синовіальній рідині суглобів пацієнтів з остеоартритом, які перехворіли на COVID-19, вміст сульфгідрильних груп знижується: небілкових SH-груп – в 1,3 раза, білкових і загальних SH-груп – в 1,4 раза відносно групи хворих на остеоартрит (табл. 2). Установлене зниження вмісту сульфгідрильних груп у синовіальній рідині суглобів пацієнтів з остеоартритом, які перехворіли на COVID-19, свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участю цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп.

Таблиця 2. Вміст сульфгідрильних (SH-) груп у синовіальній рідині колінних суглобів дослідних груп, ммоль × мг білка⁻¹ (M ± m)

Групи людей		Остеоартрит (n = 22)	Остеоартрит + COVID-19 (n = 14)
Показник			
Небілкові SH-групи		0,28 ± 0,02	0,22 ± 0,02*
Білкові SH-групи		3,15 ± 0,29	2,19 ± 0,18*
Загальні SH-групи		3,43 ± 0,32	2,41 ± 0,21*

* – p < 0,05 відносно групи людей з остеоартритом.

Згідно з отриманими нами результатами встановлено, що у синовіальній рідині хворих на остеоартрит, які перехворіли на COVID-19, активуються вільнорадикальні процеси. Це вказує на превалювання вільнорадикальних процесів і розвиток окисного стресу безпосередньо в суглобі. Виявлене нами підвищене окиснювальне пошкодження білків у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV-2-інфекції, імовірно, виникає як наслідок збільшення АФК та АФА, що утворюються при респіраторному вибуху нейтрофілів і макрофагів, які мігрують у артритний суглоб [12, 24]. В результаті взаємодії вільних радикалів із білками створює характерний профіль окиснювального пошкодження: сліди окиснених амінокислотних залишків у білках, таких як метіонінсульфоксид, дитирозин, N-формілкінуренін та ін.

Виявлене нами зростання вмісту продуктів окисної модифікації білків може призвести до цілої низки негативних наслідків: порушення структурної організації білків, зміни заряду білкової молекули, трансформації чутливості до протеолізу, що може спричинити порушення або втрату функціональної активності білкових молекул (структурної, каталітичної, регуляторної, транспортної, сигнальної, рецепторної тощо). Крім того, утворений пул модифікованих білків робить їх більш чутливими до протеолізу, що сприяє подальшій інтенсифікації деструктивних процесів. Окиснені білки здатні ставати джерелами вільних радикалів, виснажувати запаси клітинних антиоксидантів (глутатіон, аскорбінова кислота). У молекулярних механізмах вільнорадикальних процесів окиснення білків може спричинити деструкцію інших молекул, що

сприятиме синовіальному запаленню, руйнуванню хряща та ремоделюванню субхондральної кістки [20, 21, 25].

Висновки. Установлено, що у хворих на остеоартрит колінних суглобів після SARS-CoV-2-інфекції у синовіальній рідині збільшується вміст продуктів окисно-модифікованих білків і знижується вміст сульфгідрильних груп, що свідчить про загальний зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у прооксидантний бік, порівняно з пацієнтами, у яких діагностовано остеоартрит. Отже, згідно з отриманими нами результатами й аналізом літературних даних, у хворих на остеоартрит після інфікування COVID-19 можливий розвиток більш важкого перебігу остеоартриту. Такі пацієнти із хронічними захворюваннями потребують ретельного спостереження за перебігом остеоартриту й індивідуального підходу до лікування після перенесеної SARS-CoV-2-інфекції.

Список використаних джерел

1. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, Mestiri S, Taib N, Moustafa Abo El-Ella D, Bedhafi T, Raza A, Al-Zaidan L, Mohsen MO, Yousuf Al-Nesf MA, Hssain AA, Yassine HM, Bachmann MF, Uddin S, Dermime S. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. // Ann Med. 2022 Dec;54(1):524-540. doi: 10.1080/07853890.2022.2031274
2. Zhang JJ, Dong X, Liu GH, Gao YD. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. // Clin Rev Allergy Immunol. 2023 Feb;64(1):90-107. doi: 10.1007/s12016-022-08921-5. Epub 2022 Jan 19.
3. Wang H, Farokhnia F, Sanchuli N. The effects of the COVID-19 pandemic on the mental health of workers and the associated social-economic aspects: A narrative review. Work. 2023;74(1):31-45. doi: 10.3233/WOR-220136.
4. <https://covid19.gov.ua/>
5. Nalbandian A, Desai AD, Wan EY. Post-COVID-19 Condition. Annu Rev Med. 2023 Jan 27;74:55-64. doi: 10.1146/annurev-med-043021-030635. Epub 2022 Aug 1.

6. Sharma P, Behl T, Sharma N, Singh S, Grewal AS, Albarrati A, Albratty M, Meraya AM, Bungau S. COVID-19 and diabetes: Association intensify risk factors for morbidity and mortality. *Biomed Pharmacother*. 2022 Jul;151:113089. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113089. Epub 2022 May 8.
7. Farisogullari B, Pinto AS, Machado PM. COVID-19-associated arthritis: an emerging new entity? *RMD Open*. 2022 Sep;8(2):e002026. doi: 10.1136/rmdopen-2021-002026.
8. Ono K., Kishimoto M., Shimasaki T., Uchida H., Kurai D., Deshpande G.A., Komagata Y., Kaname S. Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open*. 2020 Aug;6(2):e001350. doi: 10.1136/rmdopen-2020-001350.
9. Gasparotto M., Framba V., Piovello C., Doria A., Iaccarino L. Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review. *Clin. Rheumatol*. 2021 Aug;40(8):3357-3362. doi: 10.1007/s10067-020-05550-1.
10. Mukarram MS, Ishaq Ghauri M, Sethar S, Afsar N, Riaz A, Ishaq K. COVID-19: An emerging culprit of inflammatory arthritis case *Rep. Rheumatol*. 2021 Apr 26;2021:6610340. doi: 10.1155/2021/6610340. eCollection 2021.
11. Bo Langhoff Hønge, Marie-Louise From Hermansen, Merete Storgaard Reactive arthritis after COVID-19 *BMJ Case Rep*. 2021 Mar 2;14(3):e241375. doi: 10.1136/bcr-2020-241375.
12. Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomed Pharmacother*. 2020 Sep;129:110452. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110452
13. McConnell S, Kolopack P, Davis AM. The Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties. *Arthritis Care Res*. 2001;45(5):453-61. doi: 10.1002/1529-0131(200110)45:5<453::aid-art365>3.0.co;2-w.
14. Мешишен, І. Ф. (1998). Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові. *Буковин. мед. вісн*. 2(1), 156–158. <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/15791>
15. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups / G. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82, №1. – P. 70–77. Available from: <http://aufsi.auburn.edu/recommendedmethods/01B06.pdf>
16. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. (1951). Randal, R. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 19, 3, 1, pp. 265–275.
17. Moretti L, Bizzoca D, Geronimo A, Moretti FL, Monaco E, Solarino G, Moretti B. Towards precision medicine for osteoarthritis: focus on the synovial fluid proteome. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 27;23(17):9731. doi: 10.3390/ijms23179731.
18. Bizzoca D, Moretti L, Gnoni A, Moretti FL, Scacco S, Banfi G, Piazzolla A, Solarino G, Moretti B. The usefulness of synovial fluid proteome analysis in orthopaedics: focus on osteoarthritis and periprosthetic joint infections. *J Funct Morphol Kinesiol*. 2022 Oct 28;7(4):97. doi: 10.3390/jfmk7040097.
19. Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomed Pharmacother*. 2020 Sep;129:110452. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110452. Epub 2020 Jul 3.
20. Kehm R, Baldensperger T, Raupbach J, Höhn A. Protein oxidation – formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biol*. 2021 Jun;42:101901. doi: 10.1016/j.redox.2021.101901. Epub 2021 Feb 18.
21. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *J Biol Chem*. 2019 Dec 20;294(51):19683-19708. doi: 10.1074/jbc.REV119.006217. Epub 2019 Oct 31.
22. Ertürk C, Altay MA, Büyükoğlu H, Çalışkan G, Erel Ö. Thiol/disulfide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress during the treatment process of patients with septic arthritis. *Jt Dis Relat Surg*. 2020;31(3):502-508. doi: 10.5606/ehc.2020.71982.
23. Tuzcu A, Baykara RA, Omma A, Acet GK, Dogan E, Cure MC, Sandikci SC, Cure E, Neşelioğlu S, Erel O. Thiol/Disulfide homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Rom J Intern Med*. 2019 Mar 1;57(1):30-36. doi: 10.2478/rjim-2018-0025.
24. Zahan OM, Serban O, Gherman C, Fodor D. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Med Pharm Rep*. 2020 Jan;93(1):12-22. doi: 10.15386/mpr-1422. Epub 2020 Jan 31.
25. Liao CR, Wang SN, Zhu SY, Wang YQ, Li ZZ, Liu ZY, Jiang WS, Chen JT, Wu Q. Advanced oxidation protein products increase TNF- α and IL-1 β expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression. *Redox Biol*. 2020 Jan;28:101306. doi: 10.1016/j.redox.2019.101306. Epub 2019 Aug 22.

References

1. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, Mestiri S, Taib N, Moustafa Abo El-Ella D, Bedhafi T, Raza A, Al-Zaidan L, Mohsen MO, Yousuf Al-Nesf MA, Hssain AA, Yassine HM, Bachmann MF, Uddin S, Dermime S. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. // *Ann Med*. 2022 Dec;54(1):524-540. doi: 10.1080/07853890.2022.2031274
2. Zhang JJ, Dong X, Liu GH, Gao YD. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. // *Clin Rev Allergy Immunol*. 2023 Feb;64(1):90-107. doi: 10.1007/s12016-022-08921-5. Epub 2022 Jan 19.
3. Wang H, Farokhnia F, Sanchuli N. The effects of the COVID-19 pandemic on the mental health of workers and the associated social-

economic aspects: A narrative review. *Work*. 2023;74(1):31-45. doi: 10.3233/WOR-220136.

4. Ministerstva okhorony zdorovya Ukrainy [Elektronnyi resurs]. – Rezhym dostupu: <https://covid19.gov.ua/>

5. Nalbandian A, Desai AD, Wan EY. Post-COVID-19 Condition. *Annu Rev Med*. 2023 Jan 27;74:55-64. doi: 10.1146/annurev-med-043021-030635. Epub 2022 Aug 1.

6. Sharma P, Behl T, Sharma N, Singh S, Grewal AS, Albarrati A, Albratty M, Meraya AM, Bungau S. COVID-19 and diabetes: Association intensify risk factors for morbidity and mortality. *Biomed Pharmacother*. 2022 Jul;151:113089. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113089. Epub 2022 May 8.

7. Farisogullari B, Pinto AS, Machado PM. COVID-19-associated arthritis: an emerging new entity? *RMD Open*. 2022 Sep;8(2):e002026. doi: 10.1136/rmdopen-2021-002026.

8. Ono K., Kishimoto M., Shimasaki T., Uchida H., Kurai D., Deshpande G.A., Komagata Y., Kaname S. Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open*. 2020 Aug;6(2):e001350. doi: 10.1136/rmdopen-2020-001350.

9. Gasparotto M., Framba V., Piovello C., Doria A., Iaccarino L. Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review. *Clin. Rheumatol*. 2021 Aug;40(8):3357-3362. doi: 10.1007/s10067-020-05550-1.

10. Mukarram MS, Ishaq Ghauri M, Sethar S, Afsar N, Riaz A, Ishaq K. COVID-19: An emerging culprit of inflammatory arthritis case *Rep. Rheumatol*. 2021 Apr 26;2021:6610340. doi: 10.1155/2021/6610340. eCollection 2021.

11. Bo Langhoff Hønge, Marie-Louise From Hermansen, Merete Storgaard Reactive arthritis after COVID-19 *BMJ Case Rep*. 2021 Mar 2;14(3):e241375. doi: 10.1136/bcr-2020-241375.

12. Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomed Pharmacother*. 2020 Sep;129:110452. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110452

13. McConnell S, Kolopack P, Davis AM. The Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties. *Arthritis Care Res*. 2001;45(5):453-61. doi: 10.1002/1529-0131(200110)45:5<453::aid-art365>3.0.co;2-w.

14. Meshchyshen, I. F. (1998). Metod vyznachennia oksyuniuvalnoi modyfikatsii bilkv plazmy (syrovatky) krovi. *Bukovyn. med. visn*. 2(1), 156–158. <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/15791>

15. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups / G. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82, №1. – P. 70–77. Available from: <http://aufsi.auburn.edu/recommendedmethods/01B06.pdf>

16. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. (1951). Randal, R. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 19, 3, 1, pp. 265–275.

17. Moretti L, Bizzoca D, Geronimo A, Moretti FL, Monaco E, Solarino G, Moretti B. Towards precision medicine for osteoarthritis: focus on the synovial fluid proteome. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 27;23(17):9731. doi: 10.3390/ijms23179731.

18. Bizzoca D, Moretti L, Gnoni A, Moretti FL, Scacco S, Banfi G, Piazzolla A, Solarino G, Moretti B. The usefulness of synovial fluid proteome analysis in orthopaedics: focus on osteoarthritis and periprosthetic joint infections. *J Funct Morphol Kinesiol*. 2022 Oct 28;7(4):97. doi: 10.3390/jfmk7040097.

19. Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomed Pharmacother*. 2020 Sep;129:110452. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110452. Epub 2020 Jul 3.

20. Kehm R, Baldensperger T, Raupbach J, Höhn A. Protein oxidation – formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biol*. 2021 Jun;42:101901. doi: 10.1016/j.redox.2021.101901. Epub 2021 Feb 18.

21. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *J Biol Chem*. 2019 Dec 20;294(51):19683-19708. doi: 10.1074/jbc.REV119.006217. Epub 2019 Oct 31.

22. Ertürk C, Altay MA, Büyükoğlu H, Çalışkan G, Erel Ö. Thiol/disulfide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress during the treatment process of patients with septic arthritis. *Jt Dis Relat Surg*. 2020;31(3):502-508. doi: 10.5606/ehc.2020.71982.

23. Tuzcu A, Baykara RA, Omma A, Acet GK, Dogan E, Cure MC, Sandikci SC, Cure E, Neşelioğlu S, Erel O. Thiol/Disulfide homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Rom J Intern Med*. 2019 Mar 1;57(1):30-36. doi: 10.2478/rjim-2018-0025.

24. Zahan OM, Serban O, Gherman C, Fodor D. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Med Pharm Rep*. 2020 Jan;93(1):12-22. doi: 10.15386/mpr-1422. Epub 2020 Jan 31.

25. Liao CR, Wang SN, Zhu SY, Wang YQ, Li ZZ, Liu ZY, Jiang WS, Chen JT, Wu Q. Advanced oxidation protein products increase TNF- α and IL-1 β expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression. *Redox Biol*. 2020 Jan;28:101306. doi: 10.1016/j.redox.2019.101306. Epub 2019 Aug 22.

Стаття надійшла / Submitted: 28.04.23
Статтю надіслано на рецензування / Reviewed: 28.04.23
Статтю прийнято / Accepted: 30.05.23

S. Borodin, PhD Student
e-mail: borodindoc@gmail.com,
K. Dvorshchenko, DSc (Biol.)
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE SYNOVIAL FLUID OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-CoV 2-INFECTION

The pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has made a serious public health threat worldwide. It has caused many complications and deaths, so millions of people are at risk in more and more countries. A special group consists of patients with chronic diseases, particularly osteoarthritis. It is known that the development of osteoarthritis is associated with oxidative stress and excessive production of free radicals. Proteins are highly sensitive to free radical oxidation, so their oxidation level reflects the oxidant-antioxidant balance in the body.

The aim of the work was to determine the content of products of oxidative modification of proteins and sulfhydryl groups in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. All study participants were divided into two groups. The first group (n=22) is patients with osteoarthritis of the knee joints II-III degree. The second group (n=14) is patients with osteoarthritis of the knee joints II-III degree, who suffered a mild and moderate form of COVID-19 6-9 months ago. In the conducted studies, the products of protein oxidation in the synovial fluid of patients of all experimental groups were evaluated. The content of products of oxidative modification of proteins was determined by the level of carbonyl derivatives, which are detected in the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The content of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl (SH) groups was measured by the Ellman method. Processing of research results was carried out using generally accepted methods of variational statistics.

It was established that in the synovial fluid of patients with osteoarthritis of the knee joints who contracted COVID-19, the content of products of oxidative modification of proteins increased. Under the same experimental conditions, the content of sulfhydryl groups decreased. The detected changes indicate a violation of the oxidant-antioxidant balance in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV-2 infection. This indicates the prevalence of free radical processes and the development of oxidative stress directly in the joint. Our results indicate that patients with osteoarthritis may develop more severe joint damage after infection with COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, osteoarthritis, synovial fluid, oxidative modification of proteins.